

養蚕農家による遺伝子組換えカイコ飼育

伊藤 寛*・桑原 伸夫・池田 真琴・清水 健二・下田みさと・岡野 俊彦

日本の養蚕技術は、2014年6月に世界遺産登録となった富岡製糸場設立の時代から大きく発展した世界一の技術である。しかし、生活様式の変化、輸入圧力などにより、国産生糸の需要減退、繭、生糸価格の低迷が続き、繭生産を行う養蚕業の存続が危ぶまれている。

一方、カイコへの遺伝子導入法が2000年に(独)農業生物資源研究所(茨城県つくば市)で開発され¹⁾、本来カイコが持っていない遺伝子を導入した遺伝子組換えカイコ(以下「GMカイコ」という)の作出が可能となった。この技術を用いて、これまでの交配による品種育成では不可能であった新たな形質を有するGMカイコの開発が進められている。群馬県では、付加価値の高い繭生産が期待できるGMカイコの飼育を養蚕農家が行うことで養蚕業の維持や新しいカイコ産業の創出を目指した研究を実施している。この成果として、養蚕農家によるGMカイコの実用飼育が実現し、順調に規模拡大しているので紹介する。

GMカイコの利用法

カイコは、ふ化した幼虫が桑の葉(または桑の葉粉末入り人工飼料)を食べて成長し、約25日で繭(絹タンパク質)を生産する。繭の糸は、近似三角形の断面をもつ2本のフィブロイン繊維とこれを被覆するセリシンから構成されている。GMカイコは、セリシン中に生産させた有用物質の利用²⁾(以下「有用物質生産」という)と、新たな機能を持つ生糸(フィブロイン繊維)としての利用^{3,4)}(以下「高機能シルク生産」という)の2つの用途で研究・実用化が進められている。有用物質生産では、カイコを人工飼料で飼育することで周年養蚕が可能となり、体外診断薬、化粧品、医薬品の原料を年間供給する新しいカイコ産業が実現している。また、高機能シルク生産では、桑の葉でカイコを飼育する従来に近い養蚕体系により、シルク本来の長所にさらに新しい機能を付加した高機能シルクを生産することで、養蚕業の振興を目指している。

カルタヘナ法

GMカイコは、野生生物へ影響を与えないよう管理するための「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」(以下「カルタヘナ法」という)に適合した取扱いが求められる。カルタヘナ法

には、施設内で拡散防止措置を執って行う第二種使用等と、拡散防止措置を執らないで行う第一種使用等がある。

当センターでは、GMカイコの早期実用化が可能なカルタヘナ法第二種使用等を想定した拡散防止措置を講じた大量飼育技術の研究・開発を先行した。その中で、各種拡散防止措置は、養蚕の既存施設や器具および従来の飼育法を利用できる技術を目指した。

実用化研究

GMカイコの実用品種化 遺伝子を導入したGMカイコは、実験用品種のために繭が小さく飼育が難しいことから、養蚕農家による大量飼育が可能であり経済性の高い実用品種に改良する必要がある。このため、当センターで育成した実用品種「ぐんま200」の原種(交雑種の親となる系統)である日本種「ぐんま」や、中国種「200」との交配と選抜を繰り返し、実用的に利用可能な「ぐんま系GMカイコ」と「200系GMカイコ」への改良を進めた。養蚕農家による大量飼育では、この改良したGMカイコを交雑して実用品種として使用する。これまでに、有用物質生産で5系統、高機能シルク生産で1系統のGMカイコを改良し、養蚕農家による大量飼育が可能な実用品種を作出した。

GMカイコの年間供給 GMカイコの卵を年に何度も製造することは非効率であり、拡散防止の観点からも適当ではない。そこで、年に1回、全齢人工飼料育(1齢から5齢までのカイコ幼虫を人工飼料で飼育する)で製造した卵を利用して、そのふ化幼虫を年間供給する体制を整えるための研究を行った。その結果、既存の4つの卵処理技術(即時浸酸法、冷蔵浸酸法、人工越冬法、越冬処理法)を用いることにより、年に1回の卵製造でGMカイコを年間供給することが可能となった。

また、卵の製造・保護における拡散防止措置は、従来の卵の製造で他品種との混合や掛け合わせの間違い防止のための方法(蓋や網で覆う、紙で包むなど)で対応可能であった。

GMカイコの殺虫方法 GMカイコの飼育残渣をカルタヘナ法第二種使用等の施設外に搬出して廃棄処分するためには、残渣に混入している可能性のあるカイコを確実に殺虫処理する必要がある。殺虫方法は、害虫の捕殺に見られるような圧殺処理や、窒息のように生物の呼吸を抑制する方法、高温や低温による生命維持が困難な

*著者紹介 群馬県蚕糸技術センター 蚕糸研究係(独立研究員)

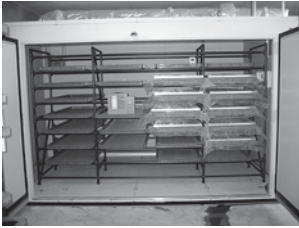


図1. 全齢人工飼料育装置



図2. 「くわのはな」



図5. 壮蚕期の拡散防止

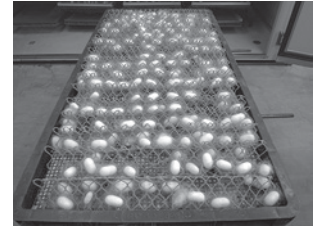


図6. 波型簇への繭形成

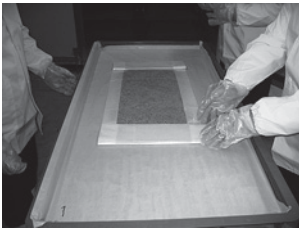


図3. 稚蚕期の拡散防止

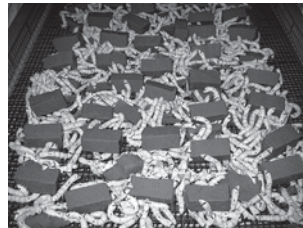


図4. 壮蚕期の飼育状況

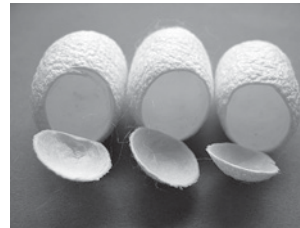


図7. 汚染のない繭層



図8. 蛹と脱皮殻の排出作業

環境に暴露する方法などが考えられる。中でも、カイコを冷凍致死させる方法が容易で確実であるため、冷凍致死条件を検討した。カイコは、 -20°C の冷凍庫内では、幼虫は1時間、蛹は2時間で100%致死した。しかし、飼育残渣に混入した幼虫は、残渣の発熱により致死までに6~8時間を要する場合があります。いかなる条件でも100%致死を確認できたのは24時間後であった。よって、GMカイコの殺虫方法は、 -20°C で24時間以上の冷凍処理とした。

有用物質生産の実用化

飼育施設の整備 当センターは、有用物質生産のためのGMカイコ飼育基盤技術を構築するために、カイコの飼育全行程を人工飼料で飼育できる全齢人工飼料育装置(図1)を整備した。この装置は、カイコ幼虫を全齢人工飼料で飼育するための温湿度管理ができる設備を備え、飼育全行程を2人作業で行える大きさのプラスチック容器を、8段4列に32枚使用できる。なお、人工飼料は、群馬県が製造・販売している稚蚕人工飼料「くわのはな」(図2)を使用する。

拡散防止した飼育方法 飼育は、プラスチック容器1枚当たりふ化幼虫3000頭単位で掃立(ふ化幼虫を容器に移して飼育を開始する作業)する。稚蚕期(1~3齢期間)は、2枚重ねの防乾紙を折りたたんで飼育することで拡散防止(図3)と同時に飼料の乾燥が抑制できる。4齢期以降は、容器1枚当りの飼育頭数を750頭に調整して飼育する。壮蚕期(4~5齢期間)は、棒状に切削した飼料で飼育(図4)し、ネットで覆い、専用フレームで固定することで拡散防止する(図5)。カイコの行動が活発となる繭形成時も同様な方法で這い出しを防止し、

なみがたぞく
波型簇(カイコが繭を作るために足場にする波状に折られた器具)に良好に繭を作らせることができる(図6)。

繭層調整方法 有用物質生産では、繭層のセリシンから目的とする物質を抽出する。その際に、繭層の汚染(糞尿、致死カイコの付着物など)が抽出に悪影響を及ぼす。そこで、有用物質を効率よく抽出できる汚染のない繭層(図7)を調整するために、繭から蛹と脱皮殻を排出(図8)し、汚染繭層を確実に除去する工程を定めた繭層調整マニュアルを作成した。

実用飼育 構築した有用物質生産のためのGMカイコ飼育基盤技術は、GMカイコの飼育を希望する養蚕農家に対して実用化を想定した飼育研修により技術移転した。研修を受けた養蚕農家は、飼育組合を設立してGMカイコ開発企業から繭生産の委託を受けた。当センターでは、実用化に向けて飼育施設のカルタヘナ法第二種使用等の大臣確認を得た。こうして、2010年11月に世界で初の養蚕農家によるGMカイコ実用飼育が開始された。翌年以降も、この施設で年数回の実用飼育が継続され、延べ21.5万頭の実用飼育が行われている。

稚蚕共同飼育所を活用した実用飼育

稚蚕共同飼育所の活用 これまでの実用飼育は、当センター施設を養蚕農家に貸し出して実施してきた。この施設は、1回に2.4万頭の飼育が最大である。今後は、企業からの委託飼育量の増加が見込まれるため、1回の飼育規模を拡大する必要が生じた。そこで、900万頭の稚蚕飼育が行える稚蚕共同飼育所(養蚕農家が飼育するカイコの稚蚕期の飼育を大規模かつ効率的に行える施設)の活用を検討した。

稚蚕共同飼育所には、稚蚕を飼育するためにロータ



図9. ロータリー式飼育装置



図10. 蚕箔の収納状況

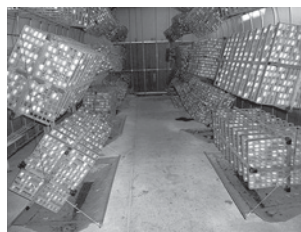


図13. 回転族による繭生産状況



図14. 開発した繭生産方法

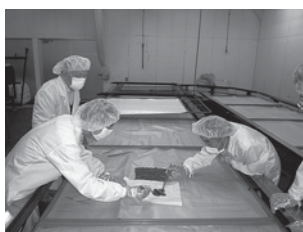


図11. 掃立



図12. 5齢期の給餌状況

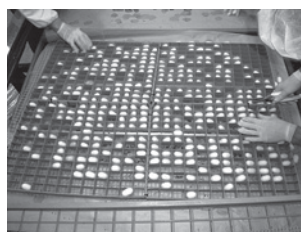


図15. 開発法の繭生産状況



図16. 収繭・毛羽取り状況

ロータリー式飼育装置が設置されている(図9)。この装置は、カイコを載せた容器(蚕箔)が高密度で収納(約15 cm 間隔, 図10)されるので施設を効率的に利用でき、自動循環により飼育労力を軽減できる。

飼育方法 飼育は、ふ化幼虫5000頭単位で掃立(図11)し、稚蚕期は切削した飼料で飼育する。4齢期には、容器1枚当りの飼育頭数を500頭に調整し、壮蚕期は棒状に切削した飼料を給餌する(図12)。飼育残渣は、飼育網を隣の空容器に移動してビニール袋に回収し、 -20°C 冷凍庫で24時間以上の殺虫処理をする。すべての飼育作業は、蚕箔が自動循環することで省力的に行える。

繭生産方法の開発 カイコが糸を吐き出し、繭を作る時には、専用の器具に移す必要がある。しかし、ロータリー式飼育装置の容器上での繭生産は、高密度で収納された容器の上下間隔が狭いため、波型族による方法(図6参照)では不可能であった。そこで、収納された容器が故障なく循環できる高さ(8 cm以下)で繭生産できる方法を開発した。この方法は、養蚕業の繭生産器具である回転族かいてんまぶし(区画された空間に1個の繭が作れるようにボール紙を格子状に結合したボール族そく10個を一つの枠内に組み立てた器具, 図13)に使用するボール族をカイコの上に平面的に固定してネット被覆する(図14)ことで容器内の高さ約6 cmで良好に繭を作らせることができる(図15)。また、ボール族を利用することで、繭の収穫と毛羽(カイコが足場を作るために吐いた糸)取り作業を養蚕農家が所有する収繭・毛羽取り機により省力的に行える(図16)。

実用飼育 実用飼育は、閉鎖した稚蚕共同飼育所を活用し、施設内の換気口や排水口にネットを張るなどの拡散防止措置を執り、繭に有用物質を生産するGMカイ

コについてカルタヘナ法産業利用第二種使用等に関する大臣確認を2014年1月に得た。これにより、2014年2月、同飼育組合により有用物質生産を目的としたGMカイコの実用化飼育が行われた。

施設の飼育環境は、カイコの各齢期の目標とする温湿度に適切に管理できた。その結果、計画どおりの飼育ができ、約9割のカイコが繭を作った。生産した繭は、繭層汚染が非常に少なく、有用物質を抽出するための繭として高品質であった。繭は、切開して蛹と脱皮殻を取り出し、汚染のない繭層を出荷した。

今後の展開

現段階では、利用可能なGMカイコが少ないため、養蚕現場での大量飼育が期待できる新たなGMカイコの実用品種化を進めている。有用物質生産のための稚蚕共同飼育所を活用したGMカイコの飼育に関しては、飼育技術の効率化を図り、2015年2月に10万頭規模の実用飼育が成功したところである。次年度以降も、年数回の10万頭規模の飼育を推進したい。また、高機能シルク生産では、当センターに養蚕農家施設を想定したモデル施設を設置し、GMカイコのカルタヘナ法第一種使用等の飼育技術の研究・開発を進めている。これにより付加価値の高い繭生産を実現し、養蚕農家の減少に歯止めを掛け、養蚕業の復活に期待したい。

文 献

- 1) Tamura, T. et al.: *Nat. Biotechnol.*, **18**, 81 (2000).
- 2) Tomita, M. et al.: *Nat. Biotechnol.*, **21**, 52 (2003).
- 3) Iizuka, T. et al.: *Adv. Funct. Mater.*, **23**, 5232 (2013).
- 4) Wen, H. et al.: *Mol. Biol. Rep.*, **37**, 1815 (2010).